

1. はじめに

本章では、DIGラベリングおよび検出において最も一般的に使用されている方法を実践するために必要な情報すべてがまとめられています。この情報は、DIGシステムを使用している当社研究室やお客様の研究室での長年にわたる数多くの実験操作の中で集積されたものです。これはまさしく「インサイダーのためのマニュアル」としてDIGシステムの多くの重要な部分を引き出しています。

ラベリングおよび検出の基本的なプロトコールに加え、本章では以下の内容を紹介しています。

- それぞれのプロトコールに必要なロシュ・ダイアグノスティックス社の製品およびその他の資材全て
- DIGの最良の結果を得るためのヒント、トラブルシューティングガイドや追加情報
- DIGシステムを用いて得られた代表的な実験結果
- DIGシステムのための大容量スクリーニング・アプリケーション

ノート: 基本的な方法に親しむため、本章を読んでください。基礎的な方法のいずれかについて、そのバリエーションの情報が必要であれば、本章に紹介されているDIG製品の取扱説明書の内容が参考になります。

DIGシステムを使用する際の追加情報については、ロシュ・ダイアグノスティックス社のウェブサイトを参照ください

(<http://www.roche-applied-science.com/DIG>).

Tip: 本章の操作方法の活用についての概要は、5 ページの「DIGアプリケーションマニュアルの概要」を参照ください。

本章で解説される方法は次の通りです。

トピックの情報	セクション	ページ
ハイブリダイゼーション用プローブのDIGラベリングに関するテクニック	2	41
ランダムプライムド法によるDNAプローブのラベリング(高収量の方法)	2.1	43
PCR法によるDNAプローブのラベリング	2.2	51
トランスクリプションによるRNAプローブのラベリング	2.3	62
オリゴヌクレオチドのDIGラベリング	2.4	73
直接検出法によりプローブの収量を概算する	2.6	75
DIGラベルされたプローブをロットへハイブリダイズさせるテクニック	3	84
DNAプローブのサザンロットへのハイブリダイゼーション	3.1	84
RNAプローブのノーザンロットへのハイブリダイゼーション	3.2	94
ロットから最良の結果を得るために	3.3	103
ロット上にハイブリダイズしたプローブを検出するテクニック	4	106
化学発光法によるロット上にハイブリダイズしたプローブの検出	4.1	106
発色法によるロット上にハイブリダイズしたプローブの検出	4.2	115
メンブレン上のプローブの剥離とリプロービングのテクニック	5	122
DIGラベルされたプローブの大容量スクリーニング・アプリケーション	6	125
DIGラベルされたプローブをコロニー/ブラックハイブリダイゼーションに使用	6.1	126